

5 4) アユのシュードモナス病に対する薬剤による治療試験②

山本充孝

【目的】

アユ養殖においては細菌性出血性腹水病（シュードモナス病）が冷水病とともに大きな問題となっている。しかし、本病原菌は既存の水産用医薬品に対しては感受性がないため、有効な治療法が全くないのが現状であることから治療技術の開発が切望されている。そこで、MIC 試験で高い感受性を示した動物用医薬品 Y-1 を用いた治療の可能性について検討した。

なお、本試験で用いた Y-1 は動物用医薬品であり、現在のところ実際にアユ養殖現場で使用することはできないため、具体的な薬剤名を示さないこととした。

【方法】

供試魚：2001年11月に琵琶湖エリで採捕され滋賀県水産試験場で飼育されたアユを用いた。また、各試験で用いた供試尾数、供試魚の大きさは表1の通りとした。

供試菌株：アユ病魚由来の *Pseudomonas plecoglossicida* FPC941 凍結保存菌株をハートインフュージョン寒天培地で 25℃・24 時間培養後、滅菌生理食塩水に懸濁して菌液を調製した。

感染試験：感染実験は調製した菌液を飼育水で希釈し、 $10^6 \sim 10^7$ cfu/ml (表1) の濃度で通気しながら、水温 19℃で 15 分間浸漬した。その後は 17～18 日間毎日実験魚の観察と水温の測定を行った。なお、試験期間中はアユ用配合飼料を適量投与した。

薬剤投与：

- ① **注射投与** 実験感染 1 時間後に薬剤 Y-1 を 0.39, 1.56, 6.25, 25 および 100mg/kg・魚体重になるように 25 または 50 μ l ずつ体側筋肉内に注射して投与効果を観察した。なお、対照区は蒸留水を接種した。
- ② **浸漬投与** 実験感染 1 時間後に薬剤 Y-1 を 1.25, 5, 10 および 20 μ g/ml の濃度で 2 時間浸漬する操作(水温 19℃)を 1 日 1 回、3 日間行った。なお、対照区は飼育水に浸漬した。
- ③ **経口投与** 薬剤 Y-1 を 3.1, 6.25, 12.5, 25, 50 および 100mg/kg・魚体重になるように実験感染 1 時間後、1 日後の 2 回強制経口投与を 1 回ずつ行った。投与法は CMC (ナトリウム塩) を添加してゲル状化後、連続分注器にカテーテルを装着し、0.1ml を胃内に強制的に投与した。なお、対照区は無処理とした。

【結果および考察】

薬剤投与の影響 注射投与、浸漬投与、経口投与すべてにおいて、一定以上の濃度で薬剤 Y-1 を投与したとき投与後 3 日以内に薬剤投与によって死亡する個体が認められた。注射投与では 1.56mg/kg 以上で死亡が認められ、死亡率は 25 および 100mg/kg ではそれぞれ 100% となった(表 2)。浸漬投与では 10 μ g/ml 以上で死亡が認められた(表 3)。経口投与では 25mg/kg 以上で死亡が認められた(表 4)。

実験感染魚に対する薬剤 Y-1 の投与効果 薬剤投与によって死亡する個体が認められたが、投薬の効果は薬剤の影響による死亡と原因菌による死亡を含めて評価した。(表 2,3,4)。投与効果は、注射投与は 6.25mg/kg だけ有意に生残率が向上した。浸漬投与は 1.25 μ g/ml だけ有意に生残率が向上した。経口投与は 25mg/kg 以上では生残率の向上が認められたが、統計的に有意とはならなかった。これらの結果から、注射投与ではアユに毒性がある濃度と効果が認められる濃度が重複しているため、治療として用いることは困難と考えられた。一方、浸漬投与では 1.25 μ g/ml で投与効果が認められたが、有効性が低いため長時間浸漬するなどさらに投与法を工夫する必要があると考えられる。

表 1. 薬剤 Y-1 を用いた治療試験における試験区の設定

	注射投与	浸漬投与	経口投与
供試魚の大きさ (g)	50	14.1	11.0
各試験区の供試尾数 (尾)	15	30	30
実験感染接種菌量 (CFU/ml)	1.9×10^7	1.4×10^7	7.0×10^6
経過観察日数 (日)	17	17	18

表 2. シュードモナス病菌実験感染魚に対する薬剤 Y-1 の注射投与結果

試験区 (mg/kg)	0(対照区)	0.39	1.56	6.25	25	100
供試尾数 (尾)	15	9	15	20	20	15
生残数 (尾)	0	1	1	7	0	0
総死亡数 (尾)	15	8	14	13	20	15
薬剤による死亡数 (尾)	0	0	2	9	20	15
原因菌死亡数 (尾)	15	8	12	4	—	—
薬剤による死亡率 (%)	0	0	13.3	45	100	100
生残率 (%)	0	11.1	6.7	35	0	0
有効率 (%)	—	11.1	6.7	35	0	0
Fisher の直接確立計算	—	×	×	P<0.05	×	×

表 3. シュードモナス病菌実験感染魚に対する薬剤 Y-1 の浸漬投与結果

試験区 (mg/kg)	0(対照区)	1.25	2.5	5	10	20
供試尾数 (尾)	31	30	28	29	29	30
生残数 (尾)	1	7	1	3	0	3
総死亡数 (尾)	30	23	27	26	29	27
薬剤による死亡数 (尾)	0	0	0	0	1	3
原因菌死亡数 (尾)	30	23	27	26	28	24
薬剤による死亡率 (%)	0	0	0	0	3.3	10
生残率 (%)	3.2	23.3	3.6	10.3	0	10
有効率 (%)	—	20.8	0.4	7.4	-3.3	7.0
Fisher の直接確立計算	—	P<0.05	×	×	×	×

表 4. シュードモナス病菌実験感染魚に対する薬剤 Y-1 の経口投与結果

試験区 (mg/kg)	0(対照区)	3.125	6.25	12.5	25	50	100
供試尾数 (尾)	30	29	29	29	30	30	28
生残数 (尾)	5	5	2	3	10	9	4
総死亡数 (尾)	25	24	27	26	20	21	24
薬剤による死亡数 (尾)	0	0	0	0	2	3	17
原因菌死亡数 (尾)	25	24	27	26	18	18	7
薬剤による死亡率 (%)	0	0	0	0	6.7	10	60.7
生残率 (%)	16.7	17.2	6.9	10.3	33.3	30.0	14.3
有効率 (%)	—	0.7	-11.7	-7.6	20	16	-2.9
Fisher の直接確立計算	—	×	×	×	×	×	×